

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-029153

(43)Date of publication of application : 29.01.2003

(51)Int.Cl.

G02B 21/00
G02B 21/06
G02B 21/36
// G01N 21/64

(21)Application number : 2001-214373

(71)Applicant : OLYMPUS OPTICAL CO LTD

(22)Date of filing : 13.07.2001

(72)Inventor : SHIMADA YOSHIHIRO

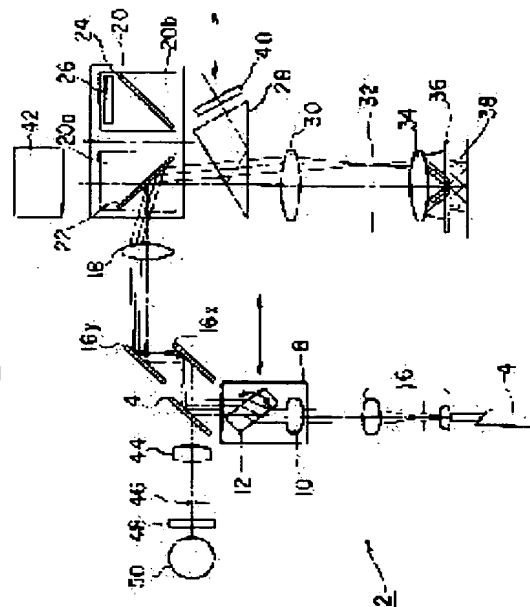
(54) LASER MICROSCOPE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a laser microscope which permits selective use of both of the function of a scanning type and a total reflection type.

SOLUTION: The laser microscope 2 of the scanning type has an irradiation means which irradiates the top of a specimen 38, with a beam emitted from a light source 4 passing through an objective lens 34 and generates fluorescence from this specimen 38.

Furthermore, the microscope as a total reflection type microscope has, in addition to the constitution described, a lens 10 which condenses the beam to a position conjugate with the pupil position of the objective lens 34 and a parallel flat plate 12, which makes the beam incident on a position offset at a prescribed distance parallel to this beam and offset from the center of the objective lens 34, refracts the beam by the objective lens 34, makes the beam incident diagonally on the specimen 38 and makes the beam at the boundary of cover glass 36 undergo total reflection and the specimen 38 and has an inserting and removing device 8, which inserts the condenser lens 10 and the parallel plane plate 12 respectively into the irradiation means by the device, capable of inserting and removing the same and holding means which holds a laser scanner 16 at a prescribed angle.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003-29153

(P2003-29153A)

(43)公開日 平成15年1月29日(2003.1.29)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] (参考)
G 0 2 B 21/00		G 0 2 B 21/00	2 G 0 4 3
21/06		21/06	2 H 0 5 2
21/36		21/36	
// G 0 1 N 21/64		G 0 1 N 21/64	E

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全 9 頁)

(21)出願番号 特願2001-214373(P2001-214373)

(22)出願日 平成13年7月13日(2001.7.13)

(71)出願人 000000376

オリンパス光学工業株式会社

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

(72)発明者 島田 佳弘

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリ
ンパス光学工業株式会社内

(74)代理人 100058479

弁理士 鈴江 武彦 (外4名)

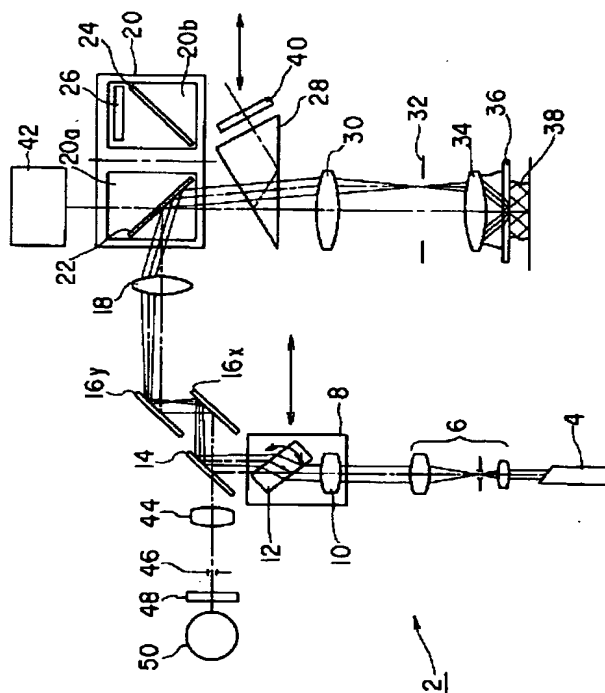
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 レーザー顕微鏡

(57)【要約】

【課題】 走査型と全反射型との両方の機能を選択的に使用できるレーザー顕微鏡を提供する。

【解決手段】 走査型のレーザー顕微鏡2は、光源4から出射したビームを対物レンズ34を介して標本38上に照射して、この標本38から蛍光を発生させる照射手段を有する。さらに、全反射型顕微鏡として、上記構成に加えて、ビームを対物レンズ34の瞳位置と共役な位置に集光させるレンズ10と、このビームに対して平行に所定の距離オフセットさせ、対物レンズ34の中心からオフセットさせた位置にこのビームを入射するとともに、この対物レンズ34で屈折させて標本38に対してビームを斜めに入射し、カバーガラス36と標本38との界面で全反射させる平行平板12とを備え、集光レンズ10と平行平板12とをそれぞれ照射手段に対して挿脱可能な装置で挿入する挿脱装置8と、レーザー走査装置16を所定の角度に保持する保持手段とを有する。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】** レーザー光源と、

このレーザー光源から発せられたレーザービームを走査するレーザー走査装置と、

このレーザービームを対物レンズを介して標本上に照射して、この標本から蛍光を発生させる照射手段と、
前記標本の像を得るようにこの蛍光を検出する検出手段と、

を具備したレーザー顕微鏡において、

前記レーザービームを前記対物レンズの瞳位置と共役な位置に集光させる集光レンズと、

このレーザービームに対して平行に所定の距離オフセットさせ、前記対物レンズの中心からオフセットさせた位置にこのレーザービームを入射させるとともに、この対物レンズで屈折させて前記標本に対してレーザービームを斜めに入射させ、前記標本に接するように配置された透明でかつ前記標本に接する面が平坦なカバー材、または前記標本が接するように保持された透明でかつ前記標本に接する面が平坦な標本保持部材と、前記標本との界面で前記レーザービームを全反射させるオフセット手段と、

前記集光レンズと前記オフセット手段とをそれぞれ単体もしくは一体にして前記レーザービームの光路上に入れる第 1 の位置と光路上から外す第 2 の位置とに挿脱可能な挿脱手段と、

をさらに具備したことを特徴とするレーザー顕微鏡。

【請求項 2】 前記オフセット手段は、レーザービームを屈折させる屈折光学系、もしくは反射させる反射光学系を備えていることを特徴とする請求項 1 に記載のレーザー顕微鏡。

【請求項 3】 前記集光レンズは、その焦点距離を変え得るズーム機構、もしくはそれぞれ異なる焦点距離を有する複数の集光レンズを切り替え可能に備えていることを特徴とする請求項 1 もしくは 2 に記載のレーザー顕微鏡。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】 本発明は、例えば、生物学や医学などの用途に用いられ、レーザー走査装置を備え、標本上にレーザービームを照射して励起された標本からの蛍光を検出して像を得るレーザー顕微鏡に関する。

【0002】

【従来の技術】 このような形式の従来の走査型レーザー顕微鏡を図 5 を参照して説明する。走査型レーザー顕微鏡 102 は、レーザー光源 104 からレーザービーム（以下、ビームという）を所定の方向に出射させ、ビームエキスパンダ 106 でこのビームを任意の径に拡大させて出射させる。また、ダイクロイックミラー 108 で、入射されたビームを直角の方向に反射させ、このビームを 1 対のガルバノメータスキャナ 110x、110

y で、それぞれ X、Y 方向に走査する。そして、瞳投影レンズ 112 を介してビームを所定の距離で集光させ、折り返しミラー 114 で結像レンズ 116 へと反射させ、このビームを対物レンズ 118 を介してカバーガラス 120 が載置された標本 122 に照射する。

【0003】 この結果、標本 122 からは、この標本 122 の特性に対応した蛍光が発せられる。この蛍光は、対物レンズ 118 および結像レンズ 116 などを通して前記ダイクロイックミラー 108 に入射する。このダイクロイックミラー 108 に入射した蛍光は透過し、共焦点レンズ 124 を介して、共焦点ピンホール 126 で焦点を結ぶ。そして、レーザーカットフィルタ 128 を介して選択された蛍光のみを光電子倍增管 130 に入射し、入射光量に応じた電気信号に光電変換させる。

【0004】 そして、この電気信号をガルバノメータスキャナ 110x、110y の走査角度に同期して画像メモリに蓄積し、ビデオ信号に同期して読み出して、画像モニタ上に画像を表示させる。

【0005】 このような走査型レーザー顕微鏡では、用途が特定されており、汎用性が制限されるという問題があった。この問題点を解決した顕微鏡として、特開平 6-27385 号公報で開示されている走査型レーザー顕微鏡が知られている。

【0006】 この走査型レーザー顕微鏡 144 は、図 6 に示すように、切り替え可能な第 1 の光路（顕微鏡観察用光路：実線）146 と、第 2 の光路（肉眼視観察用光路：破線）148 とを備えている。

【0007】 まず、この顕微鏡の光路を顕微鏡観察用の第 1 の光路 146 に設定した場合について説明する。

【0008】 この顕微鏡 144 は、レーザー光源 150 から出射されたレーザービーム（以下、ビームという）をビームエキスパンダ 152 に入射させる。このビームエキスパンダ 152 は、順に集束レンズ 154 と、ピンホール 156 と、ラインフィルタ 158 と、コリメータレンズ 160 と、ミラー 162 とを備えている。なお、コリメータレンズ 160 とミラー 162 とは、光路上を一体となって挿脱可能な第 1 のスライダ 164 上に設置されている。

【0009】 そして、ミラー 166 を介してビームを反射させ、ビームに対して傾けられたダイクロイックミラー 168 に入射させる。このダイクロイックミラー 168 は、このビームを透過させ、ミラー 170 を介してビームを反射させる。また、ミラー 172 を介してビームを反射させる。なお、このミラー 172 は、光路上を挿脱可能な第 2 のスライダ 174 上に設置されている。

【0010】 そして、ガルバノメータスキャナ 176 を介してビームを走査し、瞳投影レンズ 178 を介してこのビームを所定の距離で集光させる。そして、対物レンズ 180 を介して標本 182 上にビームを集光、照射させる。

【0011】この標本182から発せられる蛍光を対物レンズ180、瞳投影レンズ178などを順に遡って、ダイクロイックミラー168に入射させる。このダイクロイックミラー168は、蛍光を反射させ、スポット投影レンズ184、共焦点ピンホール186、レーザーカットフィルタ188および光電子倍增管190を順に介して、標本182の像を得る。

【0012】一方、この顕微鏡が肉眼視観察用の第2の光路148に設定した場合について説明する。この場合、上記の構成から第1および第2のスライド164、174が顕微鏡観察用の光路から外されている。

【0013】その代わりに、ラインフィルタ158を透過したビームを、前記コリメータレンズ160よりも大径の他のコリメータレンズ192に入射させ、平行光にする。そして、コレクターレンズ194を介して前記ガルバノメータスキャナ176付近でビームを集光させ、このビームを反射させる。そして、このビームを瞳投影レンズ178を介して、観察光学プリズム196に入射させるが、このプリズム196は、ビームを透過させる。そして、対物レンズ180を介して標本182にビームを照射させる。

【0014】この標本182から発せられた蛍光を対物レンズ180を介してプリズム196に入射させ、このプリズム196内で複数回反射させ、所定方向に出射させる。この蛍光をレーザーカットフィルタ198を介して、肉眼視する。

【0015】従って、観察光学プリズム196を光路上から外し、第1および第2のスライド164、174を光路上に入れると、従来と同様な共焦点顕微鏡観察用の光学系が構成される。

【0016】一方、観察光学プリズム196を光路上に入れ、第1および第2のスライド164、174を光路上から外すと、肉眼視観察用の光学系が構成される。

【0017】従って、上記の構成の顕微鏡では、2つのスライド164、174を光路上から挿脱して、同一のレーザー光源150を顕微鏡観察用の光源および肉眼視観察用の光源としても使用することができる。

【0018】ところで、近年より、生体細胞の機能解析が盛んに行なわれるようになってきている。これら細胞の機能解析の中で、特に細胞膜の機能を解析するために、細胞膜およびその近傍からの蛍光のみを検出するために、全反射型顕微鏡が用いられるようになってきている。

【0019】全反射型顕微鏡は、近接場光学（レーザー）顕微鏡の一種である。この顕微鏡は、標本をそれぞれ屈折率の異なる標本とカバーガラスとの界面におけるエバネッセント場で励起して、標本の特性に対応した蛍光を標識させるものである。この顕微鏡では、カバーガラスと標本（主に細胞膜）との間の屈折率の差を利用して、対物レンズの中心からオフセットされた位置からカバーガラスに向けて斜めに照明光（レーザービーム）を

導く。このカバーガラス内でレーザービームを全反射させて、カバーガラスから僅かにしみ出るレーザービームで標本を励起させる。エバネッセント場は、界面から遠ざかるにつれて、指数関数的に減衰する。可視光領域では、ガラスと水（生細胞）との界面では、100nm～200nmのしみ出し深さを得ることは容易で、このしみ出し深さが、深さ方向の空間分解能として得られる。

【0020】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、上記の一般的な走査型レーザー顕微鏡および特開平6-27385号公報による顕微鏡は、特に細胞膜の機能を解析するための装置としては、十分な性能を発揮できないことがある。また、走査型レーザー顕微鏡と、細胞膜の機能を解析するのに適した全反射型レーザー顕微鏡との両方を揃えると、コスト高になるという欠点がある。

【0021】また、特開平6-27385号公報による顕微鏡では、2つの光路が設けられ、2つの観察系を備えているが、2つの異なる顕微鏡としての機能を有するものではない。

【0022】本発明は、このような事情によりなされ、走査型レーザー顕微鏡としての機能を備えているとともに、簡単な操作で全反射型レーザー顕微鏡としての機能をも備え、それぞれの顕微鏡に切り替えて選択的に使用することができるレーザー顕微鏡を提供することを目的とする。

【0023】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決するために、本発明のレーザー顕微鏡は、レーザー光源と、このレーザー光源から発せられたレーザービームを走査するレーザー走査装置と、このレーザービームを対物レンズを介して標本上に照射して、この標本から蛍光を発生させる照射手段と、前記標本の像を得るようにこの蛍光を検出する検出手段とを備えている。そして、前記レーザービームを前記対物レンズの瞳位置と共役な位置に集光させる集光レンズと、このレーザービームに対して平行に所定の距離オフセットさせ、前記対物レンズの中心からオフセットさせた位置にこのレーザービームを入射させるとともに、この対物レンズで屈折させて前記標本に対してレーザービームを斜めに入射させ、前記標本に接するように配置された透明でかつ前記標本に接する面が平坦なカバー材、または前記標本が接するように保持された透明でかつ前記標本に接する面が平坦な標本保持部材と、前記標本との界面で前記レーザービームを全反射させるオフセット手段と、前記集光レンズと前記オフセット手段とをそれぞれ単体もしくは一体にして前記レーザービームの光路上に入れる第1の位置と光路上から外す第2の位置とに挿脱可能な挿脱手段とをさらに備えていることを特徴とするものである。

【0024】このような構成にすることにより、走査型レーザー顕微鏡を全反射型レーザー顕微鏡としても使用

することができ、用途に合わせて機能を選択することができるので、コストを低下させることができる。

【0025】

【発明の実施の形態】以下、図面を参照しながら本発明の実施の形態について説明する。

【0026】（第1の実施の形態）まず、第1の実施の形態について図1ないし図3を参照して説明する。始めに、肉眼で全反射型レーザー顕微鏡観察を行なう場合について、図1を用いて説明する。

【0027】図1に示すように、レーザー顕微鏡2は、出射口（図示せず）から所定の方向にレーザービーム（以下、ビームという）を出射するレーザー光源4を備えている。このレーザー光源4の前方には、複数の光学部材を有し、ビームを所定の径に拡大させるビームエクスパンダ6が設けられている。このビームエクスパンダ6の前方には、挿脱装置（挿脱手段）8が設けられている。この挿脱装置8は、ビームの光路上に順に集光レンズ10と平行平板（屈折光学系）12とを備えている。この集光レンズ10は、後述するガルバノメータスキャナ16x、16y間のほぼ中央にビームを集光させる。

【0028】また、この平行平板12は、互いに平行な2つの面を備え、これら面に対して垂直な軸回りに回転可能に枢支されている。このため、この平行平板12の平行な2つの面の一方の面に入射されたビームを他方の面から出射させる場合、この平行平板12の回転角度に応じて、前記出射口から出射されたビームの光路に対して平行に所定の距離オフセットさせて出射させることができる。

【0029】なお、この挿脱装置8は、手動もしくは電動で光路上から挿脱させることができる。すなわち、この挿脱装置8をビームの光路上に配置される第1の位置と、光路上から外す第2の位置とに手動もしくは電動で移動させることができる。また、これら集光レンズ10および平行平板12をそれぞれ単体として光路上から手動もしくは電動で挿脱させることもできる。すなわち、これら集光レンズ10および平行平板12をそれぞれ第1の位置と第2の位置とに手動もしくは電動で移動させることができる。ここでは、これら集光レンズ10および平行平板12は、第1の位置に配置されている。

【0030】そして、この挿脱装置8の前方には、ビームの光路に対して45°傾けられたダイクロイックミラー14が設けられている。このダイクロイックミラー14は、ビームを反射させ、このビームよりも長い波長域の光を透過させるようになっている。このため、このミラー14の中央から所定の方向にオフセットされて入射されたビームを直角に反射させる。

【0031】このビームの光路には、1対のガルバノメータスキャナ（レーザー走査装置）16x、16yが互

いに平行に設けられているとともに、ビームの光路に対してそれぞれ所望の角度に傾けられている。これらスキャナ16x、16yは、それぞれX方向、Y方向にビームを移動させて、後述する標本38上を走査させるように、可動に形成されている。なお、ここでいうX方向、Y方向とは、後述するカバーガラス36と標本38との界面上に採られている。また、ここでは、これらガルバノメータスキャナ16x、16yをビームに対して所望の角度（ここでは45°）傾けた状態に保持して使用する。すなわち、ダイクロイックミラー14に反射されたビームを1対のガルバノメータスキャナ16x、16yの中央から所定の方向にオフセットさせた位置に入射させる。このビームをそれぞれ直角に反射させるので、ガルバノメータスキャナ16yで反射されたビームは、ダイクロイックミラー14で反射されたビームに対して平行な光路を有する。

【0032】このビームの光路上には、標本38にビームを照射させる照射手段が設けられている。この照射手段は、瞳投影レンズ18を備え、この瞳投影レンズ18の中央からオフセットされた位置にビームを入射させる。そして、このビームを任意の角度に屈折して出射させる。

【0033】この瞳投影レンズ18の前方には、第1および第2のキューブ20a、20bを備えたターレット20が配設されている。第1のキューブ20aと第2のキューブ20bとの中央には、枢軸が設けられている。このため、ターレット20を枢軸の周りに回転させることができ、光路に対して第1のキューブ20aと第2のキューブ20bとを選択的に配置させることができる。

【0034】そして、第1のキューブ20aには、光路に対して所定の角度傾けられたミラー22が配設されている。また、第2のキューブ20bには、ダイクロイックミラー24とレーザーカットフィルタ26とが配設されている。なお、ターレット20に対してビームが入射および出射される方向には、図示しない開口が設けられている。ここでは、第1のキューブ20aに設けられたミラー22が光路上に配置されている。すなわち、瞳投影レンズ18から出射されたビームをミラー22で反射させる。

【0035】そして、このビームの光路上には、入射されたビームを透過させ、標本からの蛍光を反射するダイクロイックコーティングが施された観察光学プリズム28が設けられている。なお、この観察光学プリズム28は、光路上から挿脱させることができる。すなわち、この観察光学プリズム28をビームの光路上に配置する第1の位置と、光路上から外す第2の位置とに移動可能である。ここでは、この観察光学プリズム28は、第1の位置に配置されている。

【0036】そして、このビームの光路上には、結像レンズ30が設けられている。透過されたビームをこの結

像レンズ30の中央から所定の距離オフセットさせた位置に入射させる。このレンズ30を出射されたビームを後述する対物レンズ34の瞳位置32に集光させる。

【0037】なお、この瞳位置32と、前記ガルバノメータスキャナ16x、16y間のほぼ中間の位置とは、共役に設定されている。

【0038】このビームの光路上には、対物レンズ34が設けられている。一般に、全反射型レーザー顕微鏡観察には、高NAを有する対物レンズが使用される。これは、この種の観察手法が行なわれる観察対象、すなわち標本38は、一般的には生細胞なので、基本的にその屈折率は水(1.33)とほぼ同じである。このため、カバーガラス36と標本38との界面で全反射を生じさせるには、対物レンズ34のNAは、1.33よりも大きくなければならない。

【0039】そして、前記対物レンズ34の中央からオフセットさせた位置にビームを入射させる。この対物レンズ34の前方には、ビームを透過、もしくは屈折させる透明なカバー材(ここではカバーガラス)36が設けられている。このカバーガラス36は、標本38に接する面が平坦に形成されている。なお、この顕微鏡2が倒立型の場合は、通常、シャーレの底部もしくはスライドガラスなどの標本保持部材が透明なカバー材36として働く。

【0040】前記対物レンズ34を出射されたビームをカバーガラス36に斜めから照射(入射)させる。このビームをカバーガラス36と標本38との界面で全反射させる。そして、カバーガラス36の界面から僅かに滲み出る励起光(エバネッセント場)で標本38を励起させて、標本の特性に応じた蛍光を発生させる。

【0041】標本38から発せられた蛍光を対物レンズ34および結像レンズ30を介して観察光学プリズム28に入射させる。この蛍光をこのプリズム28内で複数回反射させ、所定の方向に出射させる。この蛍光の光路上には、所望の蛍光のみを出射させるレーザーカットフィルタ40が設けられている。従って、肉眼で標本38の観察を行なうことができる。

【0042】次に、CCDカメラのような撮像装置で全反射型レーザー顕微鏡観察を行なう場合について、図2を用いて説明する。以下、同一の部材には、上記で用いた符号を使用し、詳しい説明を省略する。

【0043】前記ターレット20は、回転され、第2のキューブ20bに設けられたダイクロイックミラー24とレーザーカットフィルタ26とが光路上に配置されている。このダイクロイックミラー24は、ビームを反射させ、このビームよりも長い波長域の光を透過させるようになっている。このため、ミラー22を用いた場合と同様に、瞳投影レンズ18から出射されたビームを反射させる。

【0044】また、観察光学プリズム28は、第2の位

置にあり、光路上から外されている。このため、ダイクロイックミラー24で反射されたビームを直接、結像レンズ30に入射させる。

【0045】従って、標本38の特性に応じた蛍光を対物レンズ34および結像レンズ30を順に遡って、ダイクロイックミラー24に入射させるとともにこのミラー24を透過させて、この蛍光をレーザーカットフィルタ26に入射させる。そして、この蛍光の光路上には、撮像装置(ここではCCDカメラ)42が設けられている。従って、この蛍光をCCDカメラ42によって撮像し、図示しない画面に表示させて観察を行なうことができる。

【0046】最後に、走査型レーザー顕微鏡観察を行なう場合について、図3を用いて説明する。

【0047】前記挿脱装置8は、第2の位置にあり、光路上から外されている。すなわち、集光レンズ10と平行平板12とは、第2の位置にあり、光路上から外されている。また、ターレット20は、回転され、第1のキューブ20aに設けられたミラー22が光路上に配置されている。また、観察光学プリズム28も、第2の位置にあり、光路から外されている。

【0048】従って、レーザー光源4で出射されたビームをビームエキスパンダ6を介して径を拡大させ、ダイクロイックミラー14のほぼ中央に入射させる。このダイクロイックミラー14は、ガルバノメータスキャナ16xの方向に向けてビームを反射させる。なお、上述したように、ガルバノメータスキャナ16x、16yは、可動に形成されている。

【0049】瞳投影レンズ18を介してミラー22で反射されたビームを結像レンズ30を介して対物レンズ34に入射させる。対物レンズ34は、このビームで標本38上にスポットを形成する。そして、ガルバノメータスキャナ16x、16yの走査角度に応じて、スポットで標本38上を走査させる。この標本38の特性に応じて発生された蛍光を対物レンズ34、結像レンズ30、ミラー22、瞳投影レンズ18、ガルバノメータスキャナ16y、16xを順に遡って、ダイクロイックミラー14に入射させる。このダイクロイックミラー14は、この蛍光を透過させる。また、この蛍光の光路上には、共焦点レンズ44が設けられ、入射された蛍光を所定の焦点距離に集光させる。この集光位置には、ピンホール46が設けられている。そして、この光路上には、レーザーカットフィルタ48が設けられ、所定の波長域のビームをカットする。そして、このフィルタ48の前方には、光電子倍增管50が設けられている。光電子倍增管50に入射されたビームを、この入射光量に応じて電気信号に光電変換させる。そして、この電気信号を前記ガルバノメータスキャナ16x、16yの走査角度に同期して画像メモリに蓄積させ、ビデオ信号に同期して読み出して、画像モニタ上に画像を表示させて観察を行なう

ことができる。

【0050】従って、上記のような構成で、走査型レーザー顕微鏡観察と、肉眼視またはCCDカメラによる全反射型レーザー顕微鏡観察とを切り替えて使用することができる。このため、1つの顕微鏡で、2つの機能をする顕微鏡を提供することができる。

【0051】なお、本実施の形態では、平行平板12は、第1の位置と第2の位置とを移動可能としたが、走査型レーザー顕微鏡として使用する場合、平行な2つの面をビームの光路に対して直角に配置させることが可能であれば第1の位置に配置したままでもよい。

【0052】(第2の実施の形態)次に、第2の実施の形態について、図4を参照して説明する。本実施の形態は、第1の実施の形態の構成と同一部分を備えているので、これらの部分については、説明を省略する。また、第1の実施の形態で用いた部材については、同じ符号を使用して、説明を省略する。

【0053】図4に示すように、レーザー顕微鏡2は、制御器60を備えている。この制御器60は、それぞれ後述する集光レンズターレット62と、平行平板駆動装置64と、ターレット20と、観察光学プリズム駆動装置66と、対物レンズ34のレボルバ68とにそれぞれ接続されている。

【0054】ビームエキスパンダ6とダイクロイックミラー14との間には、集光レンズターレット62が設けられている。この集光レンズターレット62は、集光レンズ62aと、凸レンズおよび凹レンズの組み合わせにより、単レンズの集光レンズ62aよりも長い焦点距離を有する集光レンズシステム62bと、図示しない空穴とを備えている。すなわち、この集光レンズターレット62は、3段切り替えとなっている。この空穴がビームエキスパンダ6から出射されたビームの光路上に配置された場合、このビームをコリメート光の状態を保って直進させる。なお、この集光レンズターレット62は、制御器60で制御される。

【0055】従って、走査型レーザー顕微鏡観察を行なう場合、集光レンズターレット62は、空穴が光路上に設定される。また、全反射型レーザー顕微鏡観察を行なう場合、集光レンズ62aもしくは集光レンズシステム62bが光路上に配置される。そして、これら集光レンズ62aおよび集光レンズシステム62bについて説明する。

【0056】上述のように、一般に、全反射型レーザー顕微鏡観察には、高NAを有する対物レンズが使用される。例えば、対物レンズのNAが1.65の場合、屈折率差(1.65-1.33=0.22)に余裕があるので、結像レンズ30から対物レンズ34に向けて出射させるビームのNAは、大きくすることができる。しかし、対物レンズ34のNAが1.4の場合、屈折率差は0.07しかなく、効率の良い照明を行なうには、結像

レンズ30から対物レンズ34への出射ビームのNAは、かなり小さなものに必要がある。また、結像レンズ30から対物レンズ34への出射ビームのNAは、小さければよいというものではなく、この値が小さすぎると、照明範囲を十分に得ることができなくなる。

【0057】なお、ビームエキスパンダ6から出射されるビームの光束を ϕo とすると、対物レンズ34から出射されるビームの光束 ϕob は、以下の式で表せられる。

$$\phi ob = \phi o \times F' / (F \times B)$$

ここで、Bは対物レンズ34の倍率、 F' は瞳投影レンズ18の焦点距離、Fは集光レンズ62aおよび集光レンズシステム62bの焦点距離である。

【0059】従って、全反射型レーザー顕微鏡観察を行なう場合、結像レンズ30から対物レンズ34への出射ビームのNAは、対物レンズ34のNAと標本38の屈折率との差を考慮して、最適な値にすることが必要である。

【0060】このため、本実施の形態では、光路に設定された対物レンズ34の種類により、集光レンズ62aもしくは集光レンズシステム62bが選択されて設置される。なお、対物レンズ34は、レボルバ68に装着され、制御器60は、光路上に設置された対物レンズ34の種類を自動判別して、集光レンズターレット62を駆動させる。

【0061】次に、平行平板12について説明する。この平行平板12は、平行平板駆動装置64上に設置されている。この平行平板12は、集光レンズターレット62とダイクロイックミラー14との間に配設されている。また、平行平板12は、平行平板駆動装置64により、ビームの光路を有する面内で回動可能に枢支されている。

【0062】この平行平板12の回動角度は、走査型レーザー顕微鏡観察を行なう場合と、全反射型レーザー顕微鏡観察を行なう場合とで、それぞれ設定される。また、全反射型レーザー顕微鏡観察を行なう場合には、光路に設定された対物レンズ34の種類により設定される。なお、対物レンズ34は、レボルバ68に装着され、制御器60は、光路上に設置された対物レンズ34の種類を検出して、これに対応する回転角に平行平板12が設定される。すなわち、光路に設定された対物レンズ34の種類により、ビームの最適なオフセット量が設定される。この値は、対物レンズ34の倍率とNAとの両者によって異なる。

【0063】また、走査型レーザー顕微鏡観察を行なう場合、対物レンズ34の種類に関係なく、平行平板12は、ビームの光路に対して垂直に設定される。

【0064】次に、この顕微鏡2の制御系について説明する。走査型レーザー顕微鏡観察を行なう場合、集光レンズターレット62は、空穴に設定される。平行平板

12は、平行平板駆動装置64によって、光路に対して垂直に設定される。また、ターレット20にはミラー22が設定されるように制御され、観察光学プリズム28は、観察光学プリズム駆動装置66によって、光路から外されるように制御される。

【0065】全反射型レーザー顕微鏡観察を行なう場合、肉眼視観察を行なうか、CCDカメラ42による観察を行なうかによって、ターレット20が選択される。肉眼視観察を行なう場合にはミラー22が、CCDカメラ42による観察を行なう場合にはダイクロイックミラー24とレーザーカットフィルタ26とがそれぞれ光路上に設置されるように制御される。

【0066】さらに、使用する対物レンズ34により、集光レンズターレット62と、平行平板12の角度とが設定される。

【0067】本実施の形態では、集光レンズターレット62に集光レンズ62aと集光レンズシステム62bとが配置されたが、これらの代わりにズーム機能を有する集光レンズを用い、焦点距離を可変にしてもよい。また、それぞれ異なる焦点距離を有する複数の集光レンズを集光レンズターレット62内に配置させ、これらを切り替えて用いてもよい。

【0068】従って、本実施の形態では、制御器60を用いて、電動で走査型レーザー顕微鏡観察と全反射型レーザー顕微鏡観察とを切り替えることができる。また、全反射型レーザー顕微鏡観察を行なう場合には、使用する対物レンズ34に最適な照明を行なうことができる。

【0069】なお、第2の実施の形態では、走査型レーザー顕微鏡観察を行なう場合、平行平板12は、ビームに対して直角になるように制御されるが、第1の実施の形態のように第2の位置に移動させるようにしてもよい。

【0070】また、第1および第2の実施の形態では、ビームをオフセットさせる手段として、平行平板（屈折光学系）12を用いて説明したが、複数のミラー（反射光学系）を使用するなど、ビームをオフセットさせることができれば、他の光学系を用いても構わない。

【0071】また、この平行平板12は、レーザー光源4とダイクロイックミラー14との間に設けたが、例えば、ガルバノメータスキャナ16yと瞳投影レンズ18との間に設けるなど、他の位置に設けてもよい。

【0072】また、第1の実施の形態では、照射手段は、瞳投影レンズ18から対物レンズ34までを指すように示したが、ビームエキスパンダ6から瞳投影レンズ18までも含まれる。

【0073】また、上述した顕微鏡では、正立型の走査型顕微鏡を例に説明したが、これに限るものではなく、例えば、倒立型の顕微鏡であってもよい。

【0074】これまで、いくつかの実施の形態について図面を参照しながら具体的に説明したが、本発明は、上述した実施の形態に限定されるものではなく、その要旨を逸脱しない範囲で行なわれるすべての実施を含む。

【0075】

【発明の効果】以上説明したように、本発明によれば、走査型レーザー顕微鏡としての機能を備えているとともに、簡単な操作で全反射型レーザー顕微鏡としての機能をも備え、それぞれの顕微鏡を選択的に使用することができるレーザー顕微鏡を提供することができる。このため、走査型および全反射型の両方のレーザー顕微鏡をそれぞれ揃えるよりも、コストを大きく低下させることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】第1の実施の形態にかかる、肉眼視で全反射型レーザー顕微鏡観察を行なう場合のレーザー顕微鏡の概略的な説明図。

【図2】第1の実施の形態にかかる、撮像装置で全反射型レーザー顕微鏡観察を行なう場合のレーザー顕微鏡の概略的な説明図。

【図3】第1の実施の形態にかかる、共焦点走査型レーザー顕微鏡観察を行なう場合のレーザー顕微鏡の概略的な説明図。

【図4】第2の実施の形態にかかる、レーザー顕微鏡を示す概略的な説明図。

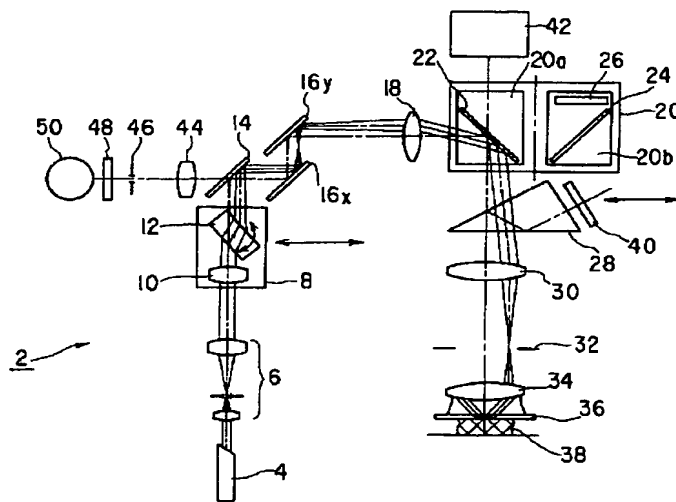
【図5】従来の実施の形態にかかる、走査型レーザー顕微鏡を示す概略的な説明図。

【図6】従来の実施の形態にかかる、走査型レーザー顕微鏡を示す概略的な説明図。

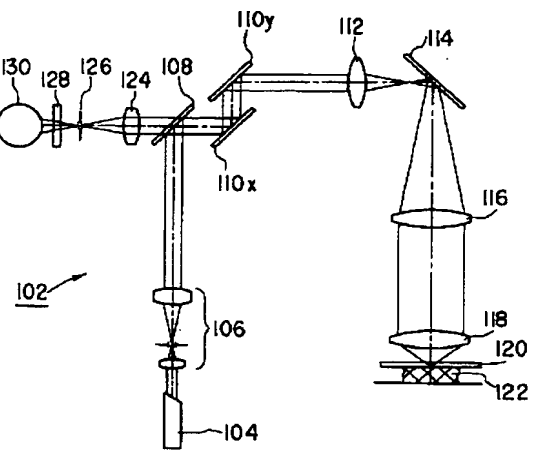
【符号の説明】

2…レーザー顕微鏡、4…レーザー光源、8…挿脱装置、10…集光レンズ、12…平行平板、16x、16y…ガルバノメータスキャナ、34…対物レンズ、36…カバー材、38…標本

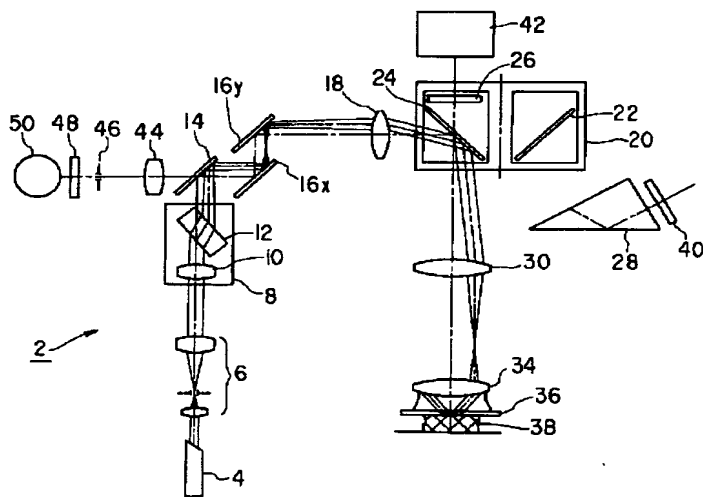
【図1】



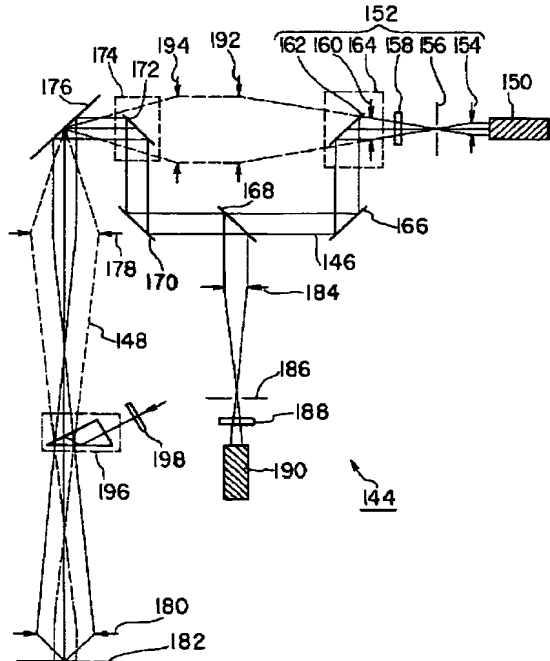
【図5】



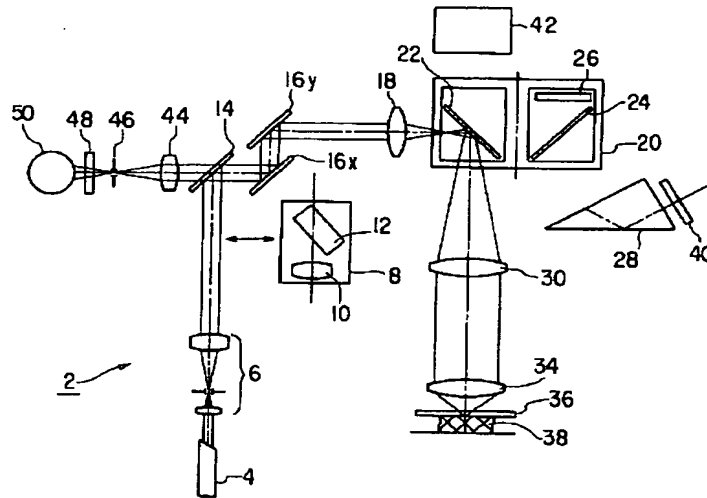
【図2】



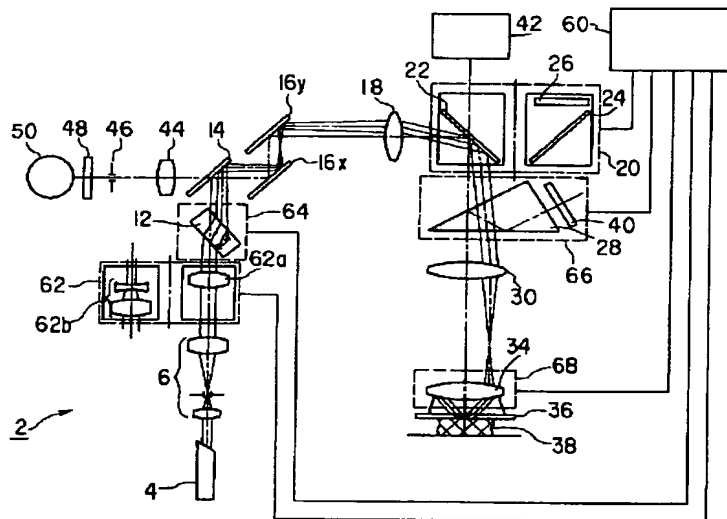
【図6】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2G043 AA03 BA16 CA05 EA01 GA02
 GA03 GB01 GB03 HA01 HA02
 HA09 JA02 KA02 KA09 LA02
 LA03
 2H052 AA00 AA07 AA08 AA09 AB05
 AB14 AB24 AB25 AC04 AC09
 AC14 AC15 AC22 AC24 AC27
 AC34 AD32 AF14

THIS PAGE BLANK (USPTO)